

**CONTRIBUTION A L'ETUDE
DE
L'INSEMINATION ARTIFICIELLE
DES
RONGEURS DE LABORATOIRE**

THÈSE

présentée

A LA FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE DE LYON

et soutenue publiquement le 30 Juin 1965

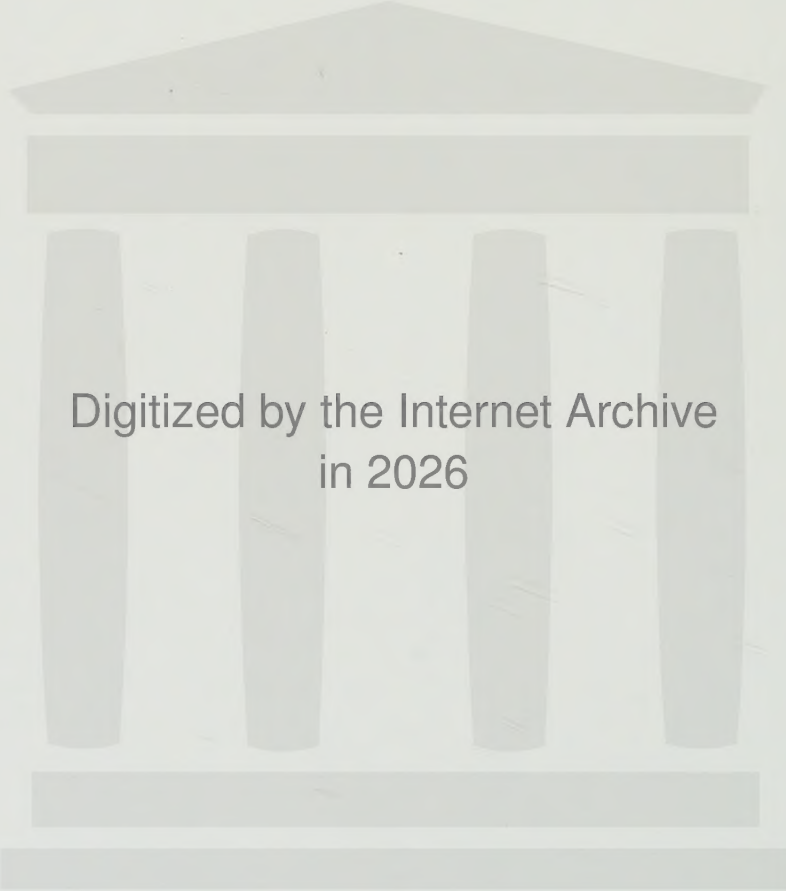
POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR VÉTÉRINAIRE

par

Philippe VOURET

Né le 12 Juin 1936, à NEUILLY sur Seine (Seine)





Digitized by the Internet Archive
in 2026

CONTRIBUTION A L'ETUDE
DE L'INSEMINATION ARTIFICIELLE
DES RONGEURS DE LABORATOIRE

ECOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE DE LYON

Année 1965 — N° 43

**CONTRIBUTION A L'ETUDE
DE
L'INSEMINATION ARTIFICIELLE
DES
RONGEURS DE LABORATOIRE**

THÈSE

présentée

A LA FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE DE LYON

et soutenue publiquement le 30 Juin 1965

POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR VÉTÉRINAIRE

par

Philippe VOURET

Né le 12 Juin 1936, à NEUILLY sur Seine (Seine)



PERSONNEL ENSEIGNANT
DE L'ÉCOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE DE LYON

Directeur	M. le Professeur FLORIO
Directeur Honoraire	M. le Professeur JUNG
Directeur Honoraire	M. le Professeur TAPERNOUX
Professeur Honoraire ...	M. le Professeur CUNY

Professeurs

15 Chaires.

1. Pharmacie et Toxicologie	M. TAPERNOUX
2. Anatomie descriptive, Extérieur, Anatomie appliquée	M. BARONE
3. Physiologie, Thérapeutique, Pharmacodynamie ..	M. BOST
4. Histologie, Embryologie, Anatomie pathologique	M. LUCAM
5. Hygiène et Industrie des Aliments d'origine animale	M. FLACHAT
6. Zoologie appliquée, Parasitologie externe, Parasitologie interne	M. EUZEBY
7. Pathologie médicale des Equidés et des Carnivores. Législation vétérinaire	M. FLORIO
8. Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de basse-cour	M. COTTEREAU
9. Technique chirurgicale, Pathologie chirurgicale	M. COLLET
10. Obstétrique, Pathologie de la Reproduction	M. BERTRAND
11. Pathologie générale, Microbiologie, Immunologie	
12. Ethnologie, Hygiène, Zootechnie, Economie rurale	M. FROGET
13. Botanique appliquée, Agronomie, Alimentation ..	M. JEAN-BLAIN
14. Physique et Chimie biologiques et médicales ..	M. MAGAT
15. Maladies contagieuses, Zoonoses, Législation sanitaire	M. JOUBERT

Maîtres de Conférences

MM. FERNEY, RUCKEBUSCH, BUSSIERAS.

Chefs de travaux

M. OUDAR, Agrégé.

MM. CHANTEGRELET, DESCHANEL, JEAN-BLAIN Claude, LAPRAS, LE NIHOUE, PROY, VAN HAVERBEKE, VERINE.

Assistants

Mlles DUFOUR, GENTILETTI, GONZALES.

MM. CAILLERE, DELATOUR, MONAVON, VOURET.

Examineurs de la Thèse

Président :	M. le Pr GIRARD, de la Faculté de Médecine.
Premier Assesseur :	M. le Pr BERTRAND, de l'Ecole Vétérinaire.
Deuxième Assesseur :	M. le Pr FROGET, de l'Ecole Vétérinaire.

La Faculté de Médecine et l'Ecole Nationale Vétérinaire déclarent que les opinions émises dans les dissertations qui leur sont présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elles n'entendent leur donner ni approbation, ni improbation.

A MON PERE, A MA MERE

Pour tous les sacrifices consentis ;
pour toute l'affection dont ils m'ont
entouré.

Q'ils trouvent ici le témoignage de ma
très grande affection et de ma très vive
reconnaissance.

A MA FIANCEE

A MA SŒUR

A TOUS MES PARENTS

A MES AMIS, A MES CAMARADES

A MONSIEUR LE PROFESSEUR GIRARD
de la Faculté de Médecine de Lyon

Qui nous a fait le grand honneur
d'accepter la présidence du jury de notre
thèse.

Hommage respectueux.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR BERTRAND
de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon

Qui a inspiré et guidé ce travail.

Nous le remercions de l'accueil qu'il nous réserve dans son service.

Témoignage de notre profond et respectueux attachement.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR FROGET
de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon

Qui nous a fait l'honneur de juger notre thèse.

Témoignage de notre respectueuse reconnaissance.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR FERNEY
de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon

Témoignage de notre respectueuse
reconnaissance.

A TOUS NOS MAITRES
de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon

INTRODUCTION

La récolte du sperme et son utilisation, soit à des fins d'insémination artificielle, soit dans un but de recherche de physiologie ou de pharmacodynamie, a déjà fait l'objet de nombreux travaux chez les rongeurs de Laboratoire.

Il nous a toutefois paru utile de faire une mise au point des différentes techniques employées et de préciser, pour quelques espèces, le mode d'insémination artificielle qui présente le plus d'intérêt.

Nous suivrons le plan suivant :

— Une première partie envisagera très rapidement quelques particularités anatomiques et physiologiques de l'appareil génital des rongeurs.

— La seconde partie sera consacrée, pour le premier chapitre, à l'étude de l'éjaculation artificielle chez diverses espèces. Le second chapitre envisagera, très succinctement, l'étude du sperme. Un troisième chapitre rappellera les différentes méthodes d'insémination artificielle de quelques rongeurs de laboratoire.

PREMIERE PARTIE

RAPPELS D'ANATOMIE ET DE PHYSIOLOGIE GENITALE CHEZ LES RONGEURS

CHAPITRE I

APPAREIL GENITAL MALE

Testicule.

L'appareil génital mâle comprend les testicules logés dans une double poche : les bourses, peu marquées chez la souris, le rat et le cobaye, plus apparentes chez le lapin. Le trajet inguinal, très large, permet les mouvements de montée et de descente du testicule sous l'action du cremaster très puissant, comprenant plusieurs plans de fibres. De ce fait, les Rongeurs sont alternativement cryptorchides, hors du coït, et phanerorchides, lors du coït.

Les voies d'excrétion du sperme.

Les voies d'excrétion du sperme : épидидyme, canal déférent, vésicules séminales et canal uro-génital, assurent la conservation des spermatozoïdes, leur dilution dans des milieux nourriciers et leur passage dans les voies génitales femelles. De ces différents segments, l'épididyme retient particulièrement l'attention car c'est le plus complexe et le moins connu. La vascularisation, la cytologie et l'histologie de l'épididyme ont fait l'objet des travaux de REID et CLELAND (69), REID (70), NICANDER (62, 63), MANEELY (54). BISHOP (14) étudie les relations entre spermatozoïdes et épидидyme.

Les spermatozoïdes passent de la partie rectiligne des canaux séminifères à la tête de l'épididyme par le rete testis. Chez le rat, la tête de l'épididyme est divisée en un lobe proximal adjacent aux testicules et un lobe distal, lui-même subdivisé en plusieurs lobes.

Chez la souris, BENOIT (8) définit sept lobes dans la tête de l'épididyme.

Chez le cobaye, les diverses parties de l'épididyme sont beaucoup moins bien différenciées. De la tête à la queue, le canal déférent s'élargit et contient de nombreux amas de spermatozoïdes. RISLEY (73) mentionne, après étude de préparations histologiques, que le passage des spermatozoïdes se fait de la partie rectiligne terminale des tubes séminifères au canal déférent épидидymaire, par une valvule formée par l'élargissement des cellules épithéliales. Sur les coupes histologiques, on ne voit qu'un très petit nombre de spermatozoïdes dans ces valvules ; il faut donc supposer que le passage se fait par des variations de pression locale, des mouvements liquides et des variations de surface des cellules épithéliales, car à ce stade les spermatozoïdes sont immobiles. On ignore si ce passage se fait graduellement ou par à-coup. ROSEN-RUDGE (78), se basant sur l'histologie, suppose que le passage est discontinu ; les spermatozoïdes cheminent la queue en avant.

VAN DE VELDE et RISLEY (74) démontrent par la microcinématographie les mouvements rythmiques des cellules épithéliales isolées. Les cellules épithéliales des canaux déférents sont de deux types :

— cellules ciliées, responsables des mouvements des liquides et des spermatozoïdes ;

— cellules non ciliées, riches en vacuoles, et qui ont un rôle de résorption selon un mécanisme analogue à celui des cellules des tubes urinifères.

Les phénomènes de résorption ont été étudiés par LADMAN et YOUNG (51) ainsi que par BURGOS (19), avec des substances radio-opaques ou par des marqueurs radio-actifs.

AMANN et ALUNQUIST (2) étudient la faculté de résorption du sperme chez le taureau et en déduisent que la production de sperme est balancée par la résorption de celui-ci dans l'épididyme.

Chez le rat, d'après ORBACH (67), MARTAN et RISLEY (75) (non publié), il ne semble pas que la résorption du sperme soit prouvée.

Les glandes annexes.

Le canal déférent se détache de la queue de l'épididyme, et par sa région ampullaire rejoint l'urètre. A ce niveau s'abouchent également les vésicules séminales qui sont longues, festonnées et très volumineuses ; chez les Rongeurs, leur musculature propre est également puissante.

Les vésicules séminales, outre leur fonction de réservoir de spermatozoïdes, élaborent une sécrétion blanche, opaque qui, sous l'action de la vésiculase, formera une masse gélatineuse, blanchâtre, difficilement dissociable : « le bouchon vaginal » qui obstrue le col de la femelle après le coït, chez les Rongeurs (LATASTE).

Chez les Rongeurs, les glandes annexes sont très développées, complexes. On peut distinguer :

- 1° Les glandes ampullaires situées à la base du déférent.
- 2° La prostate elle-même divisée en trois.

— prostate I de RANTHER (68) qui élabore une diastase : la vésiculase de CAMUS et GLEY (21) dont l'action sur la sécrétion des vésicules séminales provoque la formation du bouchon vaginal.

— prostates II et III situées à la base de l'urètre ; elles sont très volumineuses.

Les sécrétions des glandes de Cowper et des glandes urétrales de Littré s'ouvrent directement dans l'urètre et augmentent la dilution des spermatozoïdes.

L'éjaculation est la résultante de facteurs nerveux et hormonaux. Nous avons vu les données récentes du passage des spermatozoïdes des tubes séminifères à l'épididyme, nous allons envisager rapidement les mécanismes de l'érection et de l'éjaculation.

Mécanismes de l'érection et de l'éjaculation.

Mécanismes physiques :

L'érection est due à l'accumulation de sang dans les tissus érectiles de la verge. DE GRAFF en fait une démonstration aussi simple qu'évidente chez le chien, dès 1668.

Rappelons que la réplétion de la verge est due à la constriction des veines efférentes et à la fermeture des sphincters des canaux de déversement du tissu érectile, ainsi qu'à l'action des muscles bulbo-caverneux et ischio-caverneux. La contraction des fibres lisses du tissu érectile complète l'érection (DENAMUR et SIMONET : 29).

L'expulsion du sperme sous pression, ou éjaculation, se divise en deux temps.

1° La mise sous pression du sperme est due à la contraction active de tous les segments du canal génital (épididyme, vésicules séminales, prostate, canal déférent) ainsi qu'à celle des muscles pelviens et bulbo-caverneux.

2° Le sperme qui s'accumule en arrière du sphincter urétral, ne peut refluer dans la vessie à travers les valvules du veru montanum, mais est lancé dans l'urètre lorsque le sphincter se relâche. La baisse de pression en amont du sphincter entraîne sa fermeture et le phénomène se reproduit.

Chez les rongeurs, la durée de l'éjaculation est brève et on ne peut fractionner l'éjaculat dans le temps comme chez le ver rat, le chien ou l'étalon.

Mécanismes nerveux :

Les mécanismes physiques sont soumis à un conditionnement nerveux : la vue, l'odeur et la proximité de la femelle en chaleur, provoquent le désir du mâle et inhibent les centres supérieurs freinateurs. L'éjaculation est alors un mécanisme réflexe où entrent en jeu différents centres médullaires et sympathiques.

L'érection est soumise plus particulièrement au système nerveux cérébro-spinal représenté par le centre d'Eckhardt (1863). De ce centre, étagé selon les espèces entre S_1 et S_3 , émerge le nerf érecteur qui s'intègre dans le plexus sacré parasympathique. Sortant du plexus, le nerf d'Eckhardt innerve le tissu érectile, les muscles bulbo et ischio-caverneux tant par des fibres directes que par l'intermédiaire du nerf honteux interne. Le nerf érecteur contient des fibres cholinergiques vasodilatatrices, et adrénargiques vasoconstrictrices, dissociables expérimentalement. Le système sympathique participe à l'érection par des fibres nerveuses issues des premier et deuxième ganglions sacrés qui suivent le nerf honteux interne.

L'éjaculation est sous la dominance :

— Du système sympathique représenté par le ganglion mésentérique postérieur d'où émerge le nerf éjaculateur. Ce ganglion est, d'une part, un centre sympathique, d'autre part un relais pour les nerfs cérébro-spinaux issus de la moelle lombaire (ROGER et BINET : 77, RÉMY : 72), AKUTSU : 5).

— Du système cérébro-spinal, où l'existence d'un centre éjaculateur a été démontrée par SEGALAS (cité par COLIN), COLIN (24), GOLTZ (39), BUDGE (17) et ECKHARDT (cité par ROGER et BINET). De ces travaux, on déduit que le centre médullaire est situé entre la première vertèbre lombaire et la quatrième vertèbre sacrée. Il se dissocie en :

— centre de l'érection : entre L_1 et S_4 ;

— centre de l'éjaculation : entre L_2 et L_4 .

Facteurs hormonaux :

L'érection et l'éjaculation, leur conditionnement nerveux cérébro-spinal et sympathique sont liés à des processus hormonaux qui sensibilisent les organes génitaux aux stimuli nerveux.

Les androgènes ont une action directe sur le développement du système génital ; l'hypophyse, avec les hormones FSH et ICSH, joue un rôle dans la spermatogénèse et l'élaboration des androgènes.

CHAPITRE II

APPAREIL GENITAL FEMELLE

Anatomie.

Les femelles des rongeurs étant toutes gemellipares, les ovaires présentent plusieurs follicules à leur surface.

Les oviductes sont situés en regard de la région postérieure du rein et se prolongent par les cornes utérines, en général assez longues. Elles forment des circonvolutions chez la lapine alors que leur trajet est plus rectiligne chez la femelle cobaye, la rate et la souris.

Le corps de l'utérus est marqué chez la femelle cobaye, plus court chez la rate et la souris, très court chez la lapine. La lapine a deux utérus distincts possédant chacun une corne et un col. Ce sont des utérus duplex.

Le vagin des femelles des rongeurs est long ; il atteint 10 cm chez la lapine.

Les lèvres vulvaires sont en général peu marquées.

Les sécrétions annexes proviennent des parois de l'appareil génital et leur présence en plus ou moins grande quantité est liée au cycle œstral. L'épithélium de la muqueuse utérine pousse des invaginations dans le chorion et forme les glandes utérines tubiformes riches en cellules sécrétant le mucus cervical. La muqueuse vaginale est également pourvue de cellules à mucus réparties sur le plancher et les parois du vagin. La muqueuse vulvaire est richement vascularisée.

L'aspect, la structure du tractus génital des femelles sont très différents suivant la phase du cycle à laquelle on les observe, ainsi que le montre l'étude des frottis vaginaux :

Di-œstrus	{	Cellules vaginales nucléées, basophiles.
	{	Filaments de mucus.
	{	Polynucléaires nombreux.
Pro-œstrus	{	Cellules nucléées, basophiles.
	{	Noyaux en pycnose.
	{	Cytoplasme acidophile. } à la fin.
Œstrus	{	Quelques cellules épithéliales nucléées.
	{	Prédominance de grandes cellules anucléées, kératinisées, acidophiles.
	{	Disparition des polynucléaires.
Meta-œstrus	{	Apparition de grandes cellules basophiles.
	{	Persistance de quelques cellules acidophiles.
	{	Augmentation des leucocytes.

Physiologie.

Le cycle œstral :

Alors que la fonction sexuelle du mâle est étroitement liée aux mécanismes nerveux, on pensait jusqu'à une époque récente que la sexualité femelle était sous la dépendance essentielle de phénomènes hormonaux.

Depuis quelques années, cette notion tend à se modifier et le phénomène de l'ovulation provoquée par le coït prend un intérêt accru. Si ce mécanisme est bien connu chez la lapine (la chatte, la femelle du furet, la loutre également), il semble que chez la rate ce phénomène existe aussi ou qu'il y ait une influence relative du coït dans la ponte ovulaire.

Rappelons le schéma classique, et forcément incomplet, du cycle génital des femelles.

L'antéhypophyse sécrète les hormones gonadotropes :

FSH (follicle stimulating hormone).

ICSH (interstitial cell stimulating hormone).

LTH (luteotropic hormone) ou LMTH.

FSH assure la maturation du follicule de de Graaf. ICSH renforce l'action de FSH, provoque la sécrétion d'œstrogènes, déclenche la ponte ovulaire par rupture du follicule et libération de l'ovule, aide à la formation du corps jaune. La thèque interne du follicule sécrète des œstrogènes inhibiteurs des hormones gonadotropes, qui, par leur action sur le tractus génital, provoquent l'apparition des chaleurs et l'acceptation du mâle. Dès la ponte ovulaire, le taux d'œstrogènes diminue rapidement. La sécrétion accrue de ICSH permet la formation du corps jaune (progestatif ou gestatif) que l'hormone LTH rendra fonctionnel et sécrétant la progestérone.

Celle-ci provoque le repos génital et favorise la nidation de l'ovule fécondé. Quand la fécondation n'a pas été réalisée, la sécrétion de progestérone est éphémère, on peut alors observer l'anœstrus, plus ou moins long selon les espèces.

Déterminisme de l'ovulation :

Dans le cadre de l'insémination artificielle, le moment de l'ovulation revêt une très grande importance ; en effet, la vie des spermatozoïdes hors des voies génitales mâles est très brève (de l'ordre de 48 à 72 heures dans les voies génitales femelles). L'ovule pondu reste fécondable encore moins longtemps (6 heures environ). Il est donc très important, soit de prévoir le moment exact de l'ovulation, soit de la provoquer.

On pensait autrefois que l'ovulation était due à l'éclatement du follicule de de Graaf sous l'influence de l'augmentation de pression interne, ou parce qu'il avait atteint « sa taille maximale ».

ROUGH et WRIGHT (81, 90) étudient le rôle de l'hypophyse dans l'ovulation chez la grenouille et obtiennent des ovulations in-vitro, par addition d'extraits hypophysaires de grenouille. BERGERS et LI (10) obtiennent des résultats analogues avec des hormones gonadotropes de mouton. EVERETT (33) chez la rate ; FEE et PARKES (34) chez la lapine, extirpent l'anté-hypophyse

à la phase préovulatoire et suppriment la ponte ovulaire. HARTMANN et LEATHEM (42) étudient l'action de ces hormones sur des rates hypophysectomisées : l'ovulation se produit lorsque les sujets ont reçu une dose totale de 12 unités de FSH associé à une unité de ICSH. L'addition de LTH ne modifie pas les résultats. La FSH purifiée ne peut provoquer seule l'ovulation, mais l'addition de ICSH à la dernière injection entraîne la ponte ovulaire.

CARTER assure que le rôle des hormones gonadotropes est capital : ICSH provoque la ponte ovulaire après une maturation folliculaire due à l'association ICSH + FSH.

NALBANDOV (61) pense que l'ovulation se fait en deux temps ; dans un premier temps, la croissance du follicule est en rapport avec le taux des hormones gonadotropes circulantes. La croissance se poursuit et provoque un déséquilibre entre la taille du follicule et le taux d'hormone qui reste stable : il y a une atrophie physiologique qui provoque une ischémie locale et permet la ponte ovulaire ; c'est le deuxième temps.

Cette théorie ne tient pas compte des mécanismes neuro-hormonaux. On sait que, chez la rate maintenue en œstrus permanent sous l'effet de la lumière, la ponte ovulaire peut être provoquée par l'excitation électrique de l'hypothalamus (BUNN et EVERETT : 18). De même l'ovulation, bloquée par une injection de Pentobarbital lors du pro-œstrus, peut être provoquée par l'excitation électrique de l'hypothalamus (CRITCHLOW : 25, EVERETT : 34).

Toutefois, ces théories peuvent se rejoindre si l'on considère qu'il y a une neuro-sécrétion entre l'antéhypophyse et l'hypothalamus (ZUCKERMAN : 91). La relation hypothalamus-hypophyse reçoit une confirmation avec les essais de TUCHMANN-DUPLESSIS et MERCIER-PAROT (89), KEHL, LACASSAGNE et collaborateurs (50), GAUNT et collaborateurs (38) avec la réserpine ; CHAMBON (22) avec la chlorpromazine ; BERTRAND (11, 12) avec le méprobamate. Ces auteurs, par injection de tranquillisants, bloquent le cycle au stade du di-œstrus : ils observent une atrophie de tout le système génital avec un corps jaune persistant. De plus, les glandes mammaires sont très développées ; tout se passe comme si FSH et ICSH étaient inhibées et que seule LTH était sécrétée. La réserpine produirait un barrage entre l'hypothalamus et l'hypophyse. Un résultat analogue est fourni

par BENOIT et ASSENMACHER (9) chez le canard où l'action de la réserpine est remplacée par la photosensibilité de l'ovulation.

Nous pouvons conclure que, dans l'état actuel des connaissances, l'ovulation semble provoquée par l'action d'ICSH ; la sécrétion d'ICSH serait due à une excitation de la glande pituitaire transmise à partir de l'hypothalamus par une neuro-sécrétion.

La relation entre le système nerveux et la ponte ovulaire permet d'expliquer le mécanisme de l'ovulation spontanée ou de l'ovulation provoquée par le coït.

Des essais comparés ont eu lieu chez la rate et la lapine. ARON, ASCH et ASCH (4), après l'injection d'une dose d'œstrogènes capable de provoquer l'acceptation du mâle mais dépourvue d'effet lutéinisant, obtiennent l'ovulation provoquée par le coït chez la ratte. Ces auteurs concluent : « Il apparaît que les espèces à ponte spontanée et à ponte provoquée ne diffèrent que par les origines de l'activité préovulatoire des centres hypothalamiques gonadotropes. Pour le lapin, elle est déclenchée par le coït et liée vraisemblablement à des facteurs d'ordre émotionnel (FEE et PARKES : 35, BROOKS) ; pour la ratte, elle est automatique, périodique et soumise non seulement à l'action des facteurs humoraux, mais encore à celle des facteurs d'environnement tel que le rythme d'éclairement journalier ».

La connaissance de l'ovulation permet de multiplier les chances de fécondation des femelles car l'ascension des spermatozoïdes est très rapide. Les spermatozoïdes franchissent le col soit par leur propre mobilité chez le lapin (NOYES, ADAMS et WALTON : 65), soit par l'action conjuguée des mouvements des spermatozoïdes et des courants créés dans le mucus et le sperme par les mouvements du pénis et les contractions de l'utérus. Chez le rat, les spermatozoïdes passent dans l'utérus immédiatement après le coït. Chez la grande majorité des animaux, les spermatozoïdes traversent l'utérus et atteignent les trompes de Fallope dans les quelques minutes suivant le coït. Le lapin fait exception et les spermatozoïdes sont dans les trompes trente minutes après le coït (ADAMS : 1). On peut immédiatement remarquer que cette grande rapidité ne peut être due aux mouvements propres des spermatozoïdes dans le mucus cervical mais seulement au péristaltisme de l'utérus et des trompes. Il faut que les spermatozoïdes rencontrent l'ovule dès leur maturation, c'est-à-dire dans les heures suivant l'insémination.

DEUXIEME PARTIE

L'INSEMINATION ARTIFICIELLE DES RONGEURS DE LABORATOIRE

CHAPITRE I

L'EJACULATION ARTIFICIELLE

Méthodes dérivées de l'accouplement naturel.

Massages :

Ils ont été utilisés seulement chez le lapin. Le mâle repose sur le dos ; tenu par la main et le bras gauche de l'opérateur, les membres postérieurs sont étendus et tenus entre le pouce et le petit doigt de la main gauche, les testicules sont repoussés vers l'arrière pendant la manipulation. L'index et l'auriculaire gauches massent la région dorsale (nerfs spinaux). La main droite presse et extériorise le pénis tout en tenant le tube pour récolter le sperme. Certains auteurs ont obtenu des résultats en trois ou quatre minutes sur des mâles entraînés. MOON (cité par HILLEMANN, GAYNOR et DORSH : 44) a obtenu, avec une méthode analogue, quelques résultats.

Il semble toutefois que cette méthode ne soit pas applicable à la pratique courante de l'insémination artificielle.

Vagins artificiels :

Après différents essais d'électro-éjaculation qui ne nous ont pas donné de résultats satisfaisants, nous avons été conduit à choisir la méthode du vagin artificiel qui semble plus pratique chez le lapin. Ce procédé n'est pas douloureux et permet des récoltes fréquentes, sans aucun risque pour le sujet.

Historique :

Les différents vagins artificiels (V.A.) sont composés de deux tubes concentriques dont l'espace de séparation est rempli d'un liquide à température convenable.

Le premier V.A. a été utilisé par AMANTEA (3) chez le chien. Depuis, différents types ont été employés chez les bovins, les ovins et les équidés. KARDYMOVICH et MILONANOV (46) ont les premiers utilisé un V.A., en verre, chez le lapin. Puis MACIRONE et WALTON (53) ont perfectionné la méthode en remplaçant le verre par une enveloppe extérieure en caoutchouc ; WALTON (1948) utilise une enveloppe en polyéthylène.

Essais personnels :

Nous avons utilisé comme enveloppe extérieure une petite « pissette » de laboratoire en polyéthylène souple haute de 8 cm, d'un diamètre de 5 cm. Le fond a été découpé ; le bouchon a été perforé pour permettre le passage d'un tuyau de caoutchouc de 1,5 cm de diamètre, long de 6 cm environ. Sur la paroi de la « pissette », nous avons ménagé un orifice de remplissage.

L'enveloppe intérieure doit être en latex fin et souple (nous avons utilisé des préservatifs). Cette enveloppe est fixée par une extrémité sur le fond découpé de la « pissette » et l'autre extrémité, après avoir traversé le tuyau de caoutchouc, est retournée sur ce tuyau. Il est nécessaire de vaseliner l'intérieur du V.A. Un tube à hémolyse de 0,8 cm de diamètre, long de 5 cm, s'emboîte sur l'enveloppe de latex et permet la récolte du sperme. Au moment de l'emploi, le V.A. est rempli d'eau à une température comprise entre 40° C et 45° C selon les sujets (voir figure 1).

Le V.A. et le bras de l'opérateur peuvent être enveloppés dans une peau de lapin qui, trompant le mâle, favorise la

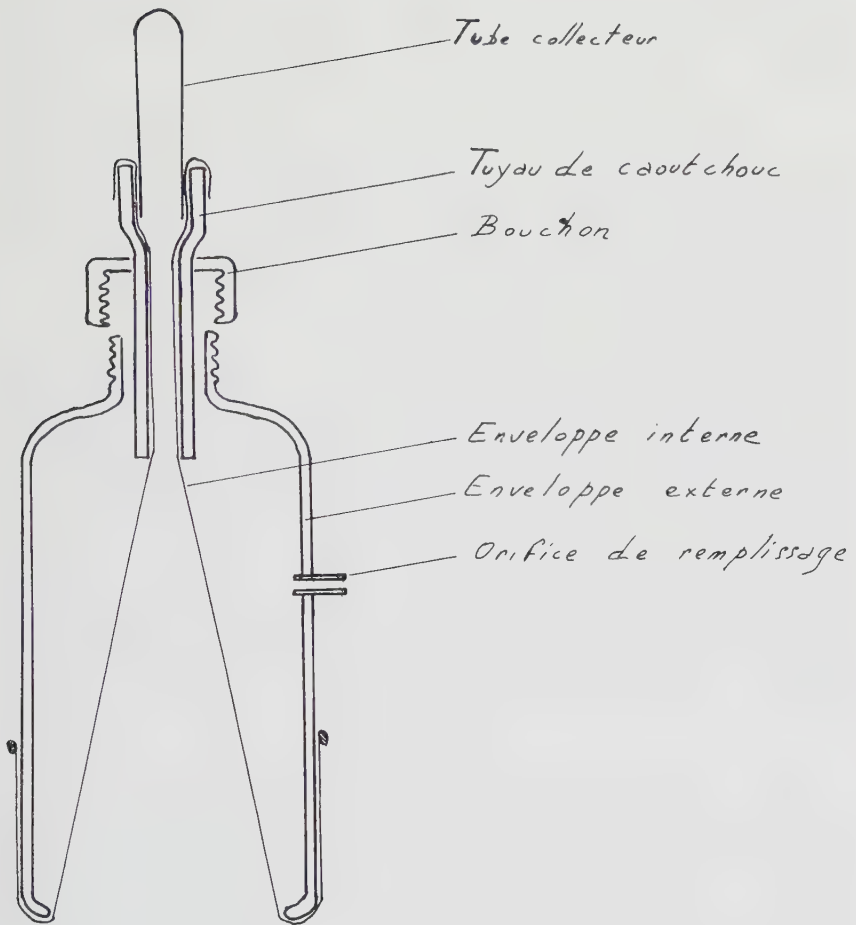


Figure I.

récolte, protège le V.A. et l'opérateur contre les coups de griffe du mâle et de la femelle, diminue la déperdition de chaleur. La pression optimale est donnée (WALTON) de façon empirique : il faut que l'index ne puisse pas pénétrer dans le V.A. alors que l'auriculaire y pénètre aisément.

Le lapin mâle est mis alors en présence d'une lapine. Il est préférable de pratiquer la récolte dans la cage même du mâle pour éviter les perturbations psychologiques et ne pas distraire le sujet. Quand le mâle sera habitué au V.A., on

pourra éventuellement opérer sur une table ; mais les résultats sont beaucoup moins fidèles. Nous n'avons jamais obtenu d'éjaculation avec le mâle seul dans la cage.

Au bout de quelques secondes, le mâle en présence de la femelle entre en érection et embrasse la lapine. A ce moment, il faut introduire la verge du lapin dans le V.A., on obtient l'éjaculation très rapidement. Cette éjaculation est facilement perceptible par la main qui tient le V.A. ; de plus, le mâle pousse un cri et se jette sur le côté.

Le plus souvent il faut faire plusieurs récoltes dans l'heure, car la première éjaculation contient souvent un sperme jaunâtre mêlé d'urine. Ce n'est qu'à la deuxième ou troisième éjaculation que l'on obtient un sperme blanc, pur, riche en spermatozoïdes vivants et très mobiles.

Il est également nécessaire « d'entraîner » le lapin au V.A. ; de même il est souhaitable que la récolte soit pratiquée par la même personne car, au moment de l'érection, la présentation du V.A. et l'introduction de la verge du lapin demande une certaine habitude pour l'opérateur.

Le rythme des récoltes a une grande importance sur le nombre des spermatozoïdes (DODGET (31), GRÉGOIRE, BRANTON, FOOTE (40). Nous avons adopté le rythme de trois récoltes réparties en une heure tous les deux jours. Il faut agir avec patience et douceur pour éviter les phénomènes de refus ; tous les mâles ne réagissent pas de la même façon, et certains sujets n'accepteront jamais le V.A.

Nous avons pratiqué, chez six lapins mâles âgés d'un an environ, l'éjaculation au V.A., en deux séries d'expériences.

Un lot de deux lapins a été soumis au V.A. régulièrement pendant cinq semaines à raison de deux ou trois sauts tous les deux jours pendant les mois de janvier et février. Le clapier était chauffé à 12° C-16° C. Le contrôle du sperme a permis de constater la présence de nombreux spermatozoïdes lors du deuxième essai. La teneur en spermatozoïdes vivants a augmenté pendant les quatre premiers jours, puis s'est stabilisée. (Voir tableau I).

TABLEAU I

Nombre d'essais dans la cage du mâle.

En présence d'une femelle :

Lapin N° I : 10 essais.

Ejaculation avec spermatozoïdes mobiles	8
Refus	2

Lapins N° II : 10 essais..

Ejaculation avec spermatozoïdes mobiles	6
Refus	4

Sans la femelle.

Lapin N° I : 3 essais.

Refus	3
-------------	---

Lapin N° II : 3 essais.

Refus	3
-------------	---

Nombre d'essais sur une table.

En présence d'une femelle.

Lapin N° I : 10 essais.

Ejaculation avec spermatozoïdes mobiles	4
Refus	6

Lapin N° II : 7 essais.

Ejaculation avec spermatozoïdes mobiles	2
Refus	5

Sans la femelle : 0 essai.

Remarque : Tous les essais ayant donné des spermatozoïdes mobiles ont été précédés d'une première série destinée à éliminer le sperme mêlé d'urine. Ils ont toujours eu lieu dans la cage du mâle avec une femelle.

Un lot de cinq lapins a été soumis au V.A. pendant quinze jours au mois de mars ; les résultats ont été analogues, mais l'un des mâles du lot a régulièrement fourni un mélange d'urine et de sperme. L'influence saisonnière est faible quand on peut maintenir les sujets à une température voisine de 15° C. Il est à remarquer que, lors de ces essais, nous n'avons observé qu'une seule fois l'émission du bouchon vaginal.

Nous pouvons conclure, après ces essais, que la méthode du V.A. chez le lapin présente plusieurs avantages :

- simplicité du matériel,
- fort pourcentage de mâles se soumettant rapidement à la méthode,
- aucun risque pour le sujet,
- facilité de la récolte du sperme,
- sperme de bonne qualité.

Méthodes pharmaco-dynamiques.

Injectons d'électrolytes :

ROCKHOLD (76) avec une injection intra-péritonéale de chlorure de potassium, de bromure de potassium ou d'iodure de potassium, obtient une éjaculation de liquide séminal, sans toutefois observer la présence de spermatozoïdes, en trente à soixante secondes après l'injection. Ces éjaculations sont régies par la loi du « tout ou rien ».

Injectons d'alcaloïdes et d'alcool :

Quelques cas d'éjaculation ont été observés par l'injection intraveineuse de strychnine, par injection sous-cutanée d'alcool (SUZUKY : 85). En fait, toute substance inhibant les centres supérieurs est susceptible d'entraîner l'éjaculation.

Injectons d'hormones :

Les androgènes, même à forte dose, sont incapables de provoquer l'éjaculation spontanée ; tout au plus peuvent-ils potentialiser et exacerber l'instinct sexuel.

ROCKHOLD obtient des éjaculations par injection intra-péritonéale d'acétylcholine. CROSS et GLOVERS (26) injectent par voie endo-veineuse chez le cobaye un à cinq micro-grammes d'adrénaline ou de nor-adrénaline. Ils obtiennent l'éjaculation en sept à trente secondes.

Toutes ces méthodes sont peu sûres et ne permettent pas une récolte constante ; elle n'ont qu'un intérêt théorique.

Méthodes agissant sur les centres nerveux supérieurs.

Moyens physiques et mécaniques :

On sait depuis longtemps que certains agents tels que choc sur la tête, strangulation, électrocution, asphyxie sont parfois capables de provoquer l'éjaculation par suppression de l'action freinatrice des centres inhibiteurs.

SPINA (84), par section de la moelle en région postérieure provoque, chez le cobaye, des contractions cloniques du train postérieur, l'érection, l'éjaculation. Les altérations de la zone hypothalamique entraînent des altérations de la sexualité (syndrome adiposo-génital chez le chien). BUDGE (17) provoque l'éjaculation chez le lapin par excitation électrique des pédoncules cérébraux ; ECKHARDT obtient les mêmes résultats. CROSS et GLOVERS (26), par stimulations électriques des régions dorsales, latérales ou postérieures de l'hypothalamus ont obtenu des éjaculations chez le lapin adulte.

Moyens chimiques :

L'anesthésie à l'éther chez le rat entraîne l'éjaculation (SUZUKY). Chez le cobaye et le lapin, il semble que l'anesthésie diminue le pourcentage d'éjaculations obtenues par chocs électriques.

Réflexes :

La vue de la femelle provoque l'érection et parfois l'éjaculation chez le lapin.

Il semble que les réflexes conditionnés jouent un rôle certain. Tant avec le V.A. qu'avec l'électro-éjaculation, il faut que les mâles soient entraînés pour obtenir des résultats de façon assez fidèle.

Méthodes agissant sur les centres nerveux spinaux ; l'électro-éjaculation.

Ces centres sont plus faciles d'accès et leur excitation est moins dangereuse que celle des centres supérieurs.

L'excitation du centre d'Eckhardt réalisée par BUDGE (1885) entraîne la vidange des vésicules séminales chez le chien.

Pour MUELLER, la destruction de la moelle n'empêche pas l'érection qui est relayée par le système parasympathique ganglionnaire étagé le long de l'axe cérébro-spinal. L'excitation électrique du ganglion mésentérique postérieur (centre sympathique) réalisée par RÉMY (71) entraîne l'éjaculation sans érection.

De nombreux auteurs se sont attachés à obtenir l'éjaculation par excitation électrique de ces centres nerveux, sans interventions chirurgicales, et de façon à ne pas entraîner la mort du sujet. Nous allons examiner successivement les différentes techniques d'électro-éjaculation employées.

Historique.

— 1922 : BATTELI (6) applique un courant alternatif de 47 cycles/seconde, 26 Volts, 25 mA, entre la nuque et la commissure labiale du cobaye. Il choisit comme rythme d'excitation deux chocs de deux secondes espacés de 1 à 2 minutes. Le premier choc entraîne des contractions du train postérieur et, parfois, l'éjaculation. Le deuxième choc provoque l'éjaculation complète.

— 1930 : MOORE et GALLAGHER (59) provoquent l'éjaculation du cobaye légèrement anesthésié à l'éther en utilisant un courant de 33 Volts alternatif appliqué pendant 10 secondes trois fois à une minute d'intervalle. L'éjaculation se produit entre la deuxième et la troisième excitation.

— 1931 : CUNY et QUIVY (27) reprennent la technique de BATTELI et obtiennent des résultats comparables.

— 1936 : GUNN (41) étudie l'électro-éjaculation de façon très complète et travaille sur le cobaye et le béliet à des fins zootechniques. Il utilise chez le cobaye un courant alternatif de 50 cycles/seconde, 30 Volts ; une électrode rectale et une électrode lombaire (une aiguille implantée dans le muscle grand-dorsal sur l'un des côtés de l'animal) placée entre les troisième et quatrième vertèbres lombaires.

— 1936 : TOULOUSE, SIMONET et EHRENRECH (88) reprennent la technique de MOORE et GALLAGHER avec un courant de 33 Volts appliqué deux fois au cobaye pendant 10 secondes, avec un intervalle de 10 secondes.

— 1937 : KUN et PECZENICK (49) travaillent sur le rat anesthésié à l'éther. Ils utilisent un courant alternatif 50 cycles/seconde, 33 Volts, 6 A. appliqué par des électrodes implantées sous la peau au niveau de la dernière côte et du sacrum. Ils produisent trois excitations de 1 à 3 secondes espacées de 60 secondes.

— 1939 : THUILLIER (86) pratique l'électro-éjaculation chez le cobaye anesthésié à l'éther. Cet auteur place une électrode à la commissure labiale, l'autre électrode est implantée sous la peau épaisse de la nuque. Il utilise un courant alternatif de 50 cycles/seconde, de 30 Volts, appliqué 4 fois pendant 5 secondes et produit des chocs à des intervalles de 1 à 5 secondes.

— 1939 : TINET (87) expérimente sur les oiseaux (gallinacés, palmipèdes, colombrins et passereaux), sur la souris et le chien. Chez la souris, il utilise un courant de 33 Volts. Le courant est appliqué pendant un temps très court, d'une part au niveau du maxillaire inférieur, d'autre part à la naissance de la queue.

— 1940 : DURFEE, LERNER et KAPLAN (32) utilisent pour la première fois des techniques d'électro-éjaculation avec des voltages et des intensités nettement plus faibles. Ils provoquent l'éjaculation chez des rats et des lapins âgés de 6 à 12 mois en appliquant un courant de 60 cycles/seconde, 13 Volts, 15 mA, au moyen d'une électrode rectale et d'une électrode implantée sous la peau au niveau de la troisième lombaire. Les excitations de 4 secondes sont espacées de 30 secondes.

— 1941 : BORDET (16) provoque l'éjaculation chez le cobaye non anesthésié. Il utilise un courant de 30 Volts, une électrode à la commissure labiale, l'autre électrode étant implantée dans la peau de la nuque.

— 1941 : BENHAM et ENDERS (7) travaillent sur le rat (et le renard) avec un courant de 25 Volts (la fréquence variant de 20 à 60 cycles/seconde), appliqué entre le rectum et la troisième vertèbre lombaire.

— 1948 : DALZIEL et PHILIPS (28) utilisent des courants de faible intensité, 8 à 16 mA, de faible voltage (20 Volts), et étudient l'influence de la fréquence. Les résultats peuvent s'inscrire sur une courbe en cloche, passant par un maximum à 1.000 périodes, et nuls à 10 et 10.000 périodes. Ils appliquent

les chocs électriques pendant 3 secondes à 12 secondes d'intervalle sur le cobaye et le chinchilla.

— 1957 : LARVOR (52) chez la souris obtient d'excellents résultats avec de faibles voltages (5 et 8 Volts), un courant alternatif de 50 cycles/seconde, dont l'intensité varie de 15 à 20 mA. KOBOZIEFF et LARVOR (48) utilisent une électrode rectale et une électrode lombaire promenée sur la région lombaire, entre L₂ et L₄. Le rythme est de 3 secondes d'excitation pour 5 secondes de repos ; les excitations peuvent être répétées une dizaine de fois sans risques pour le sujet.

— 1958 : FREUND (36) étudie un moyen commode pour obtenir de façon régulière du sperme de cobaye. Il utilise un courant de 25 Volts, 1.000 cycles/seconde, selon un rythme de 3 secondes d'excitation pour 12 secondes de repos. Le courant est appliqué entre une électrode rectale, introduite sur une longueur de 4 à 6 cm et la région lombaire sur laquelle on a appliqué une gelée conductrice du courant. Le sperme est recueilli dans une solution contenant des enzymes protéolytiques pour dissoudre le « bouchon vaginal ».

— 1959 : SCOTT et DZIUK (82) travaillent sur la souris, le cobaye et le rat. Ils utilisent une électrode bipolaire introduite dans le rectum jusqu'au niveau de la quatrième vertèbre lombaire. Le courant a une période de 60 cycles/seconde, mais son voltage augmente à chaque excitation. Chaque excitation dure 5 secondes ; elle alterne avec un repos de 10 secondes. Chez le rat et la souris, le courant varie de 0 à 4 Volts au début et croît jusqu'à 10 Volts ou 15 Volts vers la sixième excitation. Chez le cobaye, un courant de 5 à 10 Volts provoque l'éjaculation après quatre ou cinq excitations.

— 1961 : BIRNBAUM et HALL (13) pratiquent l'éjaculation électrique chez le rat en évitant l'émission des éléments coagulants. L'électrode est comparable à celle de SCOTT et DZIUK. L'intensité du courant passe de 0 à 2 Volts, plafonne 5 secondes à ce maximum, puis redevient nulle en 2 secondes. Ce cycle est répété à 10 secondes d'intervalle. La fréquence du courant reste fixée à 30 cycles/seconde.

Essais personnels :

Pour nos essais personnels d'électro-éjaculation chez le cobaye, nous avons utilisé une technique dérivée des observations précédentes.

Le courant est le courant secteur 110 Volts, 5 Ampères, 50 périodes que nous avons abaissé à 20 Volts, 25 mA, à l'aide d'un rhéostat et d'une résistance en série. Notre appareillage ne nous permettait pas de faire varier la fréquence. Le courant est appliqué au moyen de deux électrodes :

— L'électrode lombaire est constituée d'une pince crocodile utilisée couramment en électricité. Elle est placée sur la peau préalablement épilée et humectée avec une solution de chlorure de sodium à 7 %, au niveau des deuxième et troisième vertèbres lombaires.

— L'électrode rectale est un cylindre en laiton de 5 mm de diamètre, long de 10 cm, gradué en cm sur toute sa longueur. Pour faciliter l'introduction de l'électrode, nous l'avons lubrifiée avec un mélange de quatre parties de glycérine neutre et une partie de solution de chlorure de sodium à 7 %. L'appareil de contention est constitué par une planche de 40 cm de long sur 30 cm de large ; le plus petit côté est découpé en son milieu selon un triangle équilatéral de 8 cm de côté. Les quatre membres du cobaye sont attachés avec des liens élastiques pour éviter les fractures lors des contractions du sujet. La planche est inclinée pour surélever le train postérieur et favoriser la récolte du sperme.

Le cobaye est fixé sur la planche en décubitus sterno-abdominal complet. Les membres postérieurs sont fixés à deux angles du triangle équilatéral ce qui dégage la région anogénitale ; les membres antérieurs sont ensuite fixés de façon à exercer une légère tension sur le corps de l'animal. L'électrode lombaire est placée sur la région lombaire et l'électrode rectale est doucement poussée dans le rectum, sur une longueur de 6 cm environ. On vérifie la tension et l'intensité aux bornes du circuit avant d'effectuer le branchement.

La fermeture du circuit provoque des contractions toniques du train postérieur et le cobaye pousse des cris ; lorsque le circuit est ouvert il y a souvent une dyspnée plus ou moins forte selon les sujets. Il est difficile d'apprécier l'intensité de la douleur ressentie par le cobaye, mais elle doit être de courte durée, car l'animal libéré retrouve immédiatement un comportement normal.

Nous avons choisi empiriquement un rythme d'excitation électrique et les résultats les plus satisfaisants ont été obtenus avec 5 excitations de 5 secondes séparées par 5 secondes de repos ; les séries de 5 excitations sont séparées par 30 secondes d'intervalle. Ce rythme n'est pas absolu et peut être modifié selon les réactions individuelles de chaque sujet. Nous avons pratiqué la récolte du sperme une fois par semaine pour chaque sujet, suivant en cela BORDET, THUILLIER et TINET. Si on augmente la fréquence des récoltes, on peut obtenir du sperme plus souvent, mais le cobaye est rapidement épuisé : cette méthode est donc à déconseiller.

L'émission du sperme s'observe, le plus souvent, lors de la deuxième série d'excitations. Si l'on n'obtient pas de résultat après quatre séries, il est inutile de continuer les excitations, car on fatigue l'animal. Après la première série d'excitations, il est souvent utile de masser la base de la verge pour favoriser l'écoulement du sperme. Lors de nos essais d'électro-éjaculation, nous n'avons jamais observé l'érection. Après avoir extériorisé le pénis, la fermeture du circuit provoque une semi-érection, avec turgescence du gland et saillie des deux petits appendices de l'extrémité du gland, mais ce phénomène ne s'accompagne pas d'éjaculation.

Lors de nos essais d'électro-éjaculation, nous avons utilisé un lot de onze cobayes mâles dont le poids variait de 500 g à 600 g.

Les différents cobayes dont nous disposions ne se sont pas comportés de la même façon et nous pouvons établir trois types de réponse aux excitations.

— Deux sujets (N^{os} IV et V) sont réfractaires, même à des séries d'excitation répétées. Tout au plus avons-nous pu observer parfois l'émission de sécrétions des glandes annexes ou d'urine.

— Trois sujets (N^{os} II, III, VI) répondent aux excitations de façon inconstante et ne donnent du sperme qu'une fois sur deux en moyenne. Il faut remarquer, chez ces sujets, que la récolte de sperme a été améliorée avec l'accoutumance à l'électro-éjaculation.

— Six sujets répondent aux excitations de façon assez constante.

Nos résultats sont résumés dans le tableau II.

TABLEAU II.

Cobaye	RÉSULTATS					OBSERVAT.
	NOMBRE D'ESSAIS	ESSAIS AYANT DONNÉ LIEU A L'ÉMISSION DE LIQUIDE SPERMATIQUE CONTENANT :			ESSAIS N'AYANT DONNÉ LIEU A AUCUN RÉSULTAT	
		Sp. mobiles	Sp. immobil.	pas de Sp.		
I	6	3	1	1	1	
II	9	5	1		3	
III	6	2	1		3	Mort*
IV	5			2	3	Mort**
V	3				3	Mort***
VI	8	2	1	1	4	
VII	8	7	1			
VIII	7	5	2			
IX	6	5			1	
X	7	5		2		
XI	9	6	1	1	1	
Totaux :	74	40	8	7	19	
Pourcentages :		52,6 %	10,5 %	9,2 %	27,6 %	
* 10 jours après la fin des essais : Dilatation cardiaque ** 4 jours après la fin des essais : Dilatation cardiaque + lyse des poumons + myocardite. *** 10 jours après la fin des essais : Dilatation cardiaque + myocardite.						

Nous n'avons jamais observé de syncope mortelle ou d'accidents lors de nos essais d'électro-éjaculation. Il faut cependant signaler que trois de nos sujets sont morts. Dans les trois cas, la mort est survenue dans les jours suivant la dernière électro-éjaculation, et chez des sujets plus ou moins réfractaires. Dans les trois cas, nous n'avons pas observé, à l'autopsie, de lésions de péritonite (due à une perforation éventuelle par l'électrode rectale lors des contractions du sujet), mais l'ouverture de la paroi thoracique a révélé l'existence d'un cœur dilaté, hypertrophié, associé dans deux cas, à une myocardite, et pour un seul sujet, une lyse rapide des poumons (cette autopsie ayant été effectuée 48 heures après la mort de l'animal). Nous supposons que la dilatation cardiaque est peut-être liée aux efforts musculaires lors de la tétanisation provoquée par le passage du courant.

Conclusion.

De cette étude des différentes techniques pratiques d'éjaculation artificielle chez les rongeurs de laboratoire, nous pouvons conclure que le vagin artificiel semble le mode d'éjaculation artificielle le plus pratique pour le lapin, alors que l'électro-éjaculation reste valable pour les espèces plus petites telles que cobaye, rat et souris.

CHAPITRE II

LE SPERME DES RONGEURS DE LABORATOIRE

Aspect du sperme.

Le sperme des rongeurs comprend diverses fractions :

— Un liquide translucide, blanchâtre, visqueux, contenant des gouttelettes lipidiques ou de petits cristaux réfringents en forme de dièdre ou de parallélépipède.

— Une masse gélatineuse, dure, élastique, blanchâtre, difficilement dissociable, insoluble dans le liquide de Ringer. Cette masse gélatineuse représente le « bouchon vaginal » qui obstrue, chez les rongeurs, le vagin de la femelle.

— Les spermatozoïdes qui sont soit mobiles dans un liquide séminal, soit inclus dans le « bouchon vaginal ».

Chez le cobaye lors de l'excitation électrique, l'éjaculation peut se faire selon deux modalités :

— liquide blanchâtre contenant les spermatozoïdes et s'écoulant sans coaguler dans le dilueur ;

— masse gélatineuse accompagnée de très légères traces de liquide et sortant de la verge à la manière d'une pâte contenue dans un tube souple. Cette masse contient des spermatozoïdes et il est très difficile de les faire passer dans le dilueur, même par broyage.

FREUND (1958) obtient la liquéfaction du « bouchon vaginal » en utilisant la « Varidase » (N.D.) en suspension dans une

solution de phosphate. La liquéfaction du « bouchon vaginal » est complète et la mobilité des spermatozoïdes conservée ; de plus le bouchon vaginal se recoagule cinq à dix minutes après sa liquéfaction.

Des résultats plus constants sont obtenus avec la chymotrypsine en suspension dans une solution de phosphate à 1 ‰ dans l'eau bidistillée. La concentration optimale de la chymotrypsine est de 0,1 %. Des concentrations inférieures n'entraînent pas la liquéfaction complète du « bouchon vaginal » qui se recoagule *in vitro*, six heures après sa liquéfaction, à la température de 39° C (FREUND).

Examen du sperme.

Examen macroscopique :

L'examen macroscopique du sperme recueilli ne fournit pas de résultats très probants. Tout au plus, chez le lapin, peut-on considérer comme bon un sperme blanc nacré et comme médiocre un sperme grisâtre ; le sperme de couleur jaune sale, mêlé d'urine, doit être rejeté, même s'il contient des spermatozoïdes vivants.

Le volume de l'éjaculat est variable selon les espèces ; il est de 0,8 à 1 ml chez le lapin, de 0,5 à 1 ml chez le cobaye. Toutefois, rapporté au volume obtenu par semaine, on obtient 8 à 15 ml chez le lapin et 1 ml chez le cobaye soumis tous deux à des prélèvements réguliers.

Examen microscopique :

L'examen microscopique renseigne davantage ; il est basé sur la conformation des spermatozoïdes et leurs mouvements. On trouve dans tout éjaculat un pourcentage de spermatozoïdes anormaux comparable chez le cobaye et le lapin aux pourcentages des autres espèces : de l'ordre de 15 à 25 % ; l'anomalie la plus fréquente semble être, chez le cobaye, les spermatozoïdes bifides. La numération des spermatozoïdes peut se faire selon GALLIEN et ROUX (37) de façon très simple dans un hémocytomètre après dilution du sperme dans une solution de chlorure de sodium à 3 % qui tue les spermatozoïdes et permet leur numération.

Le nombre de spermatozoïdes est variable selon les espèces :

- 700×10^6 chez le lapin (ADAMS).
- 68×10^6 chez le cobaye (SCOTT et DZUIK).
- 63×10^6 chez le rat.

La vitalité des spermatozoïdes est évaluée selon des critères de mobilité (GALLIEN et ROUX : 37).

- mouvements rectilignes coefficient 5
- mouvements circulaires coefficient 3
- mouvements d'oscillations .. coefficient 2

De plus, les mouvements de térébration et de rotation autour du grand axe du spermatozoïde sont un bon signe de sa vitalité.

Autres épreuves :

Les épreuves de biochimie sont également importantes ; elles permettent : soit le dosage des constituants du sperme (MANN : 55), soit l'évaluation de sa vitalité (épreuve de la réductase, par exemple).

Dilution et conservation du sperme.

Les milieux de dilution et de conservation du sperme ont été étudiés par de nombreux auteurs (voir à ce sujet : MELROSE : 57, MANN : 56, DERIVAUX : 30, HERMAN : 43, ADAMS : 1).

Le nombre et la variété des dilueurs sont considérables. Nous pouvons les classer en deux catégories :

— Dilueurs à base de solutions ioniques employées seules, du type sérum salé à 7 ‰, liquide de Ringer...

— Dilueurs à base de matières organiques :

Milieux au jaune d'œuf.

Milieux au lait (naturel, homogénéisé, écrémé, en poudre).

Milieux au lait et au jaune d'œuf.

Milieu au jus de tomates.

Milieu au miel.

Milieu au lait de noix de coco.

Milieu au sérum sanguin.

Milieu au plasma séminal.

Milieu à la gélatine.

Tous ces milieux contiennent, mélangés avec la matière de base, des substances tampon, de la glycérine, des sucres, (fructose, lactose, glucose), des enzymes (catalase, mucinase, hyaluronidase, thyroxine), des hormones (œstrogènes, progestérone), des vitamines (Vit. B 12, Vit. E).

De même on peut y ajouter des antibiotiques fongiques (pénicilline, streptomycine, tétracycline, chloromycétine, néomycine, polymyxine) seuls ou associés entre eux ou à des sulfamides (sulfamézathine, sulfanilamide).

Tous ces milieux permettent une utilisation retardée du sperme qui peut être conservé à basse température, après un refroidissement qui évitera les chocs thermiques auxquels les spermatozoïdes sont très sensibles.

Si le sperme du lapin peut être recueilli pur, il est indispensable de collecter le sperme du cobaye dans un dilueur qui évitera la coagulation en masse de l'éjaculat. Nous avons utilisé deux solutions différentes selon l'usage que nous voulions faire du sperme.

1° Liquide de Ringer modifié :

Chlorure de potassium	0,014 g
Chlorure de sodium	0,650 g
Chlorure de calcium	0,012 g
Bicarbonate de sodium	0,020 g
Phosphate monosodique	0,001 g
Glucose	0,200 g
Eau bidistillée	100 ml

Cette solution permet l'insémination artificielle dans les heures qui suivent le prélèvement. Les spermatozoïdes y restent vivants et bien mobiles vingt heures après la récolte lorsqu'ils sont placés à une température de 20° C.

2° Milieu « Photolings Company » :

Citrate de soude, solution à 3 %	1
Jaune d'œuf frais	1

Ce milieu permet de conserver le sperme plus longtemps en réfrigération à + 4° C. Après trois jours, les spermatozoïdes, ramenés progressivement à la température du laboratoire, avaient encore une activité très marquée lors de l'examen au microscope.

CHAPITRE III

L'INSEMINATION ARTIFICIELLE DES FEMELLES

La voie d'insémination artificielle la plus conventionnelle est la voie vaginale. On peut également pratiquer l'insémination artificielle à la faveur d'une laparotomie, et l'on dépose directement le sperme dans l'utérus, l'oviducte ou les trompes. On a aussi utilisé la méthode dite « intrapéritonéale ».

Nous envisagerons successivement ces différentes méthodes.

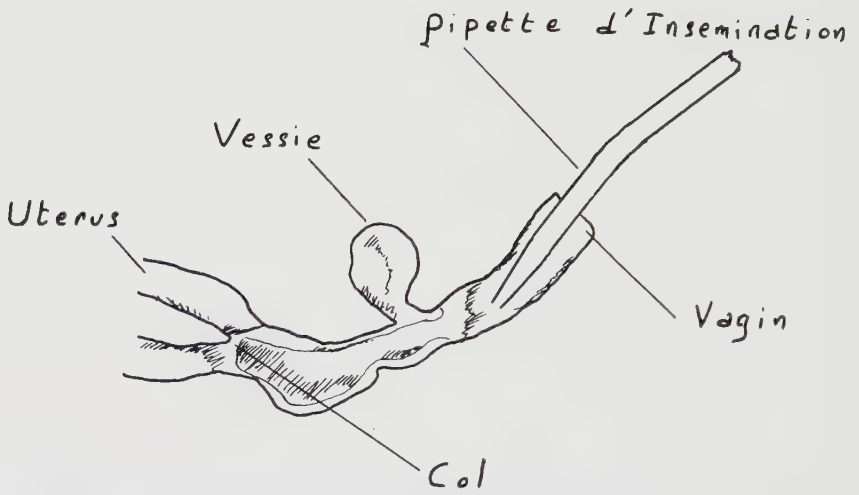
Insémination artificielle de la Lapine.

Par voie vaginale :

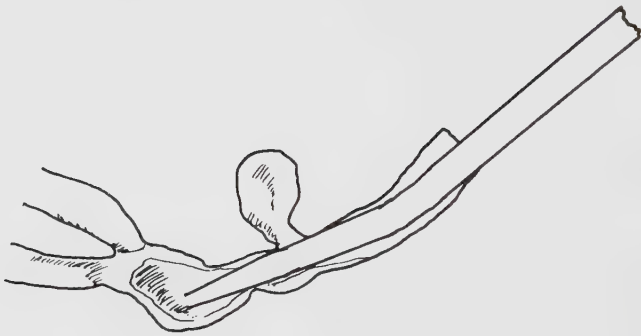
Cette espèce de taille importante, de manipulation facile, se prête aisément à l'insémination artificielle par voie vaginale. Nous avons utilisé, avec succès, une technique régulièrement employée à « the Animals Research Station » Cambridge et décrite par ADAMS.

Matériel :

La femelle est préparée comme suit : après une période d'isolement de quinze jours, elle reçoit une injection intraveineuse de 20 U.I. de gonadotropine chorionique. Huit heures après, on peut pratiquer l'insémination artificielle. L'ovulation peut être induite chez la lapine avec des doses inférieures (de l'ordre de 8 à 10 U.I.) mais il faut tenir compte des sensibilités individuelles et la dose de 20 U.I. provoque l'ovulation de façon certaine.



Position A



Position B

Figure II.

A : Introduction.

B : Juste avant l'insémination.

(D'après ADAMS).

Le matériel d'insémination est réduit ; il comprend une pipette en verre, longue de 15 à 18 cm, d'un diamètre de 8 mm. L'une des extrémités est étirée et son diamètre est ramené à 4 mm. A 6 cm de l'extrémité effilée, la pipette est coudée selon un angle de 15°. Après remplissage de la solution de sperme, l'extrémité libre de la pipette est fermée par un bouchon de caoutchouc pour éviter la perte du liquide lors de l'introduction de la pipette.

Technique :

La lapine est couchée sur le dos, sur les genoux de l'opérateur, les pattes postérieures sont maintenues d'une main et ramenées sur l'abdomen de la femelle. Le corps de la lapine est maintenu entre l'avant-bras et le corps de l'opérateur. Cette position dégage la région anogénitale. La pipette, maintenue en position A, la partie concave vers le rachis de la lapine, est poussée doucement en longeant le bord supérieur du bassin jusqu'à 5 cm de la vulve, puis, après une rotation de 180° pour franchir le détroit antérieur, on fait pénétrer la pipette en position B jusqu'à ce que l'extrémité effilée soit à 8 ou 10 cm des lèvres de la vulve. (Voir figure II).

On retire le bouchon et, en soufflant dans la pipette pour chasser le sperme dans le vagin, on la recule de 1 ou 2 cm ; on cesse de souffler et on retire doucement la pipette. De cette façon, le reflux de la solution de sperme dans la pipette est évité. On masse doucement la région en maintenant la femelle sur le dos pendant deux à trois minutes avant de la remettre au clapier. ADAMS, avec cette technique, a obtenu 91,3 % d'inséminations réussies.

Après laparotomie :

CHENG et CASIDA (23), NOYES (64, 65) inséminent la lapine directement dans l'utérus, mais ces techniques sont plus longues et ne sont utilisées que dans des buts spéciaux.

Insémination artificielle des autres espèces.

La femelle du cobaye :

L'insémination artificielle par voie vaginale est décrite par BLANDAU et YOUNG (1939) mais il semble que la méthode

la plus pratique soit la voie intra-péritonéale dont la technique a été codifiée. ROWLANDS (79) injecte 50×10^6 spermatozoïdes dans le péritoine dans les huit heures après la fin de l'œstrus. Il obtient un pourcentage de fécondation de 100 %.

La ratte :

L'insémination artificielle par voie vaginale est décrite par BLANDAU et JORDAN (15) chez la ratte en phase d'œstrus anesthésiée à l'éther. On injecte la suspension de spermatozoïdes dans chaque canal cervical. Il faut activer le corps progestatif soit par copulation avec un « boute en train » (HIRAIWA et YOSHIDA : 45), soit par excitation mécanique ou électrique du col (OGAWA et SUZUKI : 66).

La souris :

SNELL, HUMMEL et ABELMAN (83) reprennent la technique de LONG et MARK d'insémination artificielle par voie vaginale. Les souris sont élevées à l'obscurité et éclairées de 22 h. 30 à 10 h. 30 de façon à ce que l'œstrus (qui se produit naturellement pendant la nuit) ait lieu dans la journée. Les femelles sont inséminées à 16 h. et aussitôt après sont placées avec des mâles stériles dont le coït ne fournit que le « bouchon vaginal ».

KILE (47) au contraire, injecte le sperme directement dans les cornes utérines de 1 h. 30 à 4 h. 30 après le dépôt du « bouchon vaginal » par un mâle stérile. Les souris sont également élevées à l'obscurité.

EDWARD (33) pratique l'insémination artificielle sur des souris élevées à l'obscurité et exposées à la lumière depuis deux heures. Ensuite, les femelles sont appariées avec des mâles stériles non seulement pour avoir le dépôt du « bouchon vaginal », mais surtout pour provoquer un stimulus qui permet la gestation.

Conclusion.

Le pourcentage de fécondation est d'autant plus grand que diverses conditions sont réalisées :

- déterminisme du moment exact de la ponte ovulaire ;
- concentration optimale de spermatozoïdes dans les trompes ;
- survie des gamètes et rencontre du spermatozoïde et de l'ovule.

C'est le but des recherches sur l'insémination artificielle.

CONCLUSION GENERALE

Les particularités de la physiologie sexuelle des rongeurs doivent guider l'adaptation de l'insémination artificielle à ces espèces.

Même chez les femelles dites à ovulation spontanée, il convient de tenir compte des facteurs extérieurs dans le déterminisme de l'ovulation.

Chez le lapin, le meilleur procédé de récolte du sperme est le vagin artificiel.

Chez le cobaye, le rat, la souris, c'est l'électro-éjaculation.

Le sperme des rongeurs peut être dilué et conservé : les connaissances à ce sujet sont encore fragmentaires.

L'insémination artificielle est facile chez la lapine. Elle est possible chez les autres femelles des rongeurs, mais plus délicate.

Vu : le Professeur responsable,
M. BERTRAND.

Vu : le Directeur,
M. FLORIO.

Vu : le Doyen,
M. CIER.

Vu : le Président,
Professeur R. GIRARD.

Vu et permis d'imprimer,
le 10 juin 1965 :
P. LOUIS.

BIBLIOGRAPHIE

1. ADAMS (C.E.). — Artificial insemination in rodents, in *The semen of animals and artificial insemination*, edit. by J.P. Maule, 1962, *Commonwealth Agricultural Bureaux, London*.
2. AMANN (R.P.), ALMQUIST (J.O.). — Reproductive capacity of dairy bulls. Effect of unilateral vasectomy and ejaculation frequency on sperm reserves, aspects of epididymal physiology. *J. Reprod. Fertil.*, 1962, (3), 260.
3. AMATEA (G.). — Arch. Ital. Biol., 1914 (62), 35, in *J. of Physiol.* 1958, (143), 26.
4. ARON (G.), ASCH (G.), ASCH (L.). — Le rapprochement sexuel est-il susceptible de provoquer la rupture folliculaire des mammifères dits « à ponte spontanée ». *Gyn. Obst.*, 1963, (62), 53.
5. AKUTSU (S.). — Beiträge zur Kenntniss der Innervation der Samenblase beim Meerschweinchen. *Arch. F. Ges. Physiol.* 1903, (96), 541.
6. BATTELI (F.). — Méthodes pour obtenir l'émission complète du liquide des vésicules séminales chez le lapin. *C. R. Soc. de Phys. et Hist. Nat. de Genève*, 1922 (33), 73.
7. BENHAM (T.A.), ENDERS (R.K.). — An improved stimulator for obtaining semen from small animals. *North American Vet.*, 1941, (22), 300.
8. BENOIT (J.). — Recherches anatomiques, cytologiques et histophysiologiques sur les voies excrétrices du testicule chez les mammifères. *Arch. d'Anat. d'Histol. et d'Embryol.*, 1926, 5, (173), 412.
9. BENOIT (J.), ASSENMACHER (I.). — Le contrôle hypothalamique de l'activité préhypophysaire gonadotrope. *J. Physiol.*, 1955, (47), 427.
10. BERGERS (A.C.J.), LI (C.H.). — Amphibian ovulation in vitro induced by mammalian pituitary hormones and progesterone. *Endocrinology*, 1960, (66), 225.
11. BERTRAND (M.). — Effets du méprobamate sur l'évolution de la gestation chez la rate. *C. R. Soc. Biol.*, 1960 (154), 2309.

12. BERTRAND (M.). — Recherches sur le mode d'action du méprobamate sur l'évolution de la gestation chez la rate. *C. R. Soc. Biol.*, 1961, (155), 514.
13. BIRNBAUM (D.), HALL (T.). — Electro ejaculation of Rats. *Anat. Rec.*, 1961, 140.
14. BISHOP (D.W.). — Sperm motility. *Physiol. Revs.*, 1962, (42), 1.
15. BLANDEAU (R.J.), JORDAN (E.S.). — A technique for the artificial insemination of the white rat. *J. Lab. Clin. Med.*, 1941 (36), 1931.
16. BORDET (R.). — Contribution à l'étude de l'insémination artificielle. Etude expérimentale de l'électro-éjaculation chez le cobaye. *Thèse Doct. Vét., Toulouse*, 1941.
17. BUDGE (R.). — Veber das Centrum Genitospirale des Nervus Sympathicus. *Virchows Archiv.*, 1958, (15), 115.
18. BUNN (J.P.), EVERETT (J.W.). — Ovulation in persistent œstrus rats after electrical stimulation of the Brain. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1957, (96), 369.
19. BURGOS (M.H.). — Fine structure of the efferent ducts of the hamster testis. *Anat. Rec.*, 1957, (127), 401.
20. CAMUS (L.), GLEY (E.). — Action coagulante du liquide prostatique sur le contenu des vésicules séminales. *C. R. Soc. Biol.*, 1896, (48), 787.
21. CAMUS (L.), GLEY (E.). — Action du liquide prostatique sur le contenu des glandes séminales du cobaye nouveau-né ou très jeune. *C. R. Soc. Biol.*, 1921, (68), 880.
22. CHAMBON (Y.). — *Ann. Endocrin.*, 1955, (16), 912.
23. CHENG (P.), CASIDA (L.E.). — Fertility in rabbit as effected by the dilution of semen and the number of spermatozoa. *Proc. Soc. Exp. Biol.*, 1948, (69), 36.
24. COLIN (G.). — *Traité de physiologie comparée des animaux domestiques*. 1854, J.B. Baillière, édit., Paris.
25. CRITCHLOV (V.). — Ovulation inducted by hypothalamic stimulation in the anestesied rat. *Am. J. Physiol.*, 1958, (195), 171.
26. CROSS (B.A.), GLOVERS (T.D.). — The hypothalamus and seminal emission. *J. Endocrin.*, 1958, (16), 385.
27. CUNY (L.), QUIVY (D.). — Sur la caractérisation de l'hormone mâle dans les extraits testiculaires par la méthode de l'éjaculation électrique. *C. R. Soc. Biol.*, 1931, (107), 580.

28. DALZIEL (C.F.), PHILIPS (C.L.). — Electric ejaculation, determination of the optimum electric shock to produce ejaculation in chinchillas and guinea-pigs. *Amer. J. Vet. Res.*, 1948, (9), 225.
29. DENAMUR (R.), SIMONET (H.). — Quelques aspects récents du mécanisme de l'érection et de l'éjaculation. *Rec. Méd. Vet.*, 1950, (126), 577.
30. DERIVAUX (J.). — Physiopathologie de la reproduction et insémination artificielle des animaux domestiques, 1958, *Vigot Frères, édit.*, Paris.
31. DOGGET (V.C.). — Periodicity in the fecundity of male rabbit. *Amer. J. Physiol.*, 1956, (187), 445.
32. DURFEE (T.), LERNER (M.W.), KAPLAN (N.). — The artificial production of seminal ejaculation. *Anat. Rec.*, 1940, (76), 65.
33. EDWARDS (R.G.). — The experimental induction of gynogenesis in the mouse. *Proc. Roy. Soc.*, 1957, (146), 469.
34. EVERETT (J.W.). — The time of release of ovulating hormone from the rat hypophysis. *Endocrinol.*, 1956, (59), 580.
35. FEE (A.R.), PARKES (A.S.). — Studies on ovulation, I : The relation of the anterior pituitary body to ovulation in the Rabbit. *J. Physiol.*, 1930, (70), 385.
36. FREUND (M.). — Collection and liquefaction of guinea-pig semen. *Proc. Soc. Exp. Biol.*, 1958, (98), 538.
37. GALLIEN (L.), ROUX (P.). — L'insémination artificielle chez les animaux domestiques. 1948, *Presses Universitaires de France*, Paris.
38. GAUNT (R.), RENZI (A.A.), ANTONCHAK (N.), MILLER (G.J.), GILMAN (M.). — Endocrine aspects of the pharmacology of reserpine. *Am. N.Y. Acad. Sci.*, 1954, (59), 22.
39. GOLTZ (F.). — Über das Centrum der Erektionsnerven. *Arch. f. die Ges. Physiol.*, 1873, (7), 582.
40. GRÉGOIRE (A.T.), BRATTON (R.W.), FOOTE (R.H.). — Sperm output and fertility of rabbits ejaculated once a week or once a day for fourty-three weeks. *J. Anim. Sci.*, 1946, (17), 243.
41. GUNN (R.M.C.). — Fertility in sheep. Artificial production of seminal ejaculation and the characters of spermatozoa contained therein. *Australian Counc. for Sci. and Ind. Res. Bull.*, 1936, (94), 1.
42. HARTMAN (C.G.), LEATHAM (J.H.). — Oogenesis and ovulation, in *Mechanisms concerned with Ovulation*, 1963, Pergamon Press, New York.

43. HERMAN (H.A.). — Frozen Semen in the Artificial Insemination of farm Animals, edit. by E.J. Perry, 1960, Rutgers University Press, New Brunswick.
44. HILLEMANN (H.H.), GAYNOR (A.I.), DORSH (A.). — Artificial insemination in chinchillas. *J. of Small An. Practice*, 1962, (3), 77.
45. HIRARWA (Y.K.), YOSHIDA (H.). — Conception in the cross between *Rattus norvegicus* and *Rattus rattus*. *Bull. Agric. Kysushu Univ.*, 1955, (15), 125.
46. KARDINOVICH (M.), MILANOV (V.). — *Prob. Zivotn.*, 1933, 1, 87. In *J. of Physiol.*, 1958, (143), 26.
47. KILE (J.C.). — The improved method for the artificial insemination of mice. *Anat. Rec.*, 1952, (109), 109.
48. KOBOZIEFF (N.), LARVOR (P.). — Sur la faculté d'éjaculation de la souris mâle en fonction de l'âge. *C. R. Soc. Biol.*, 1953, (147), 64.
49. KUN (H.), PECZENICK (C.). — Die biologische Wirksamkeit der männlichen Sexualhormone vertäuscht durch Follikel. hormon Nachweis am elektrischen Rattentest. *Wien Wochschr.*, 1937, (50), 419.
50. LACASSAGNE (A.), DUPLAN (J.F.), BUU-HOI (N.P.). — Effets sur l'ovaire de la souris d'un traitement prolongé à la réserpine. *C. R. Ac. Sci.*, 1958, (247), 729.
51. LADMAN (A.J.), YOUNG (W.C.). — An electron microscopie study of the ductuli efferentes and rete-testis of the guinea pig. *J. Biophys. Biochem. Cytol.*, 1958, (4), 219.
52. LARVOR (P.). — Exploration de la fonction éjaculatoire chez la Souris. Contribution à l'étude de l'électro-éjaculation chez les Animaux domestiques et de Laboratoire. *Thèse Doct. Vét., Paris*, 1957.
53. MACIRONE (C.), WALTON (A.). — *J. Agric. Sci.*, 1938, (28), 122. In *J. of Physiol.*, 1958, 143.
54. MANEELY (R.B.). — Epididymal structure and function : a historical and critical review. *Acta. Zool.*, 1959, (40), 1.
55. MANN (T.). — Evaluation of Semen by Chemical Analysis in *The Artificial insemination of Farm Animals*, edit. by E.J. Perry, 1960, Rutgers University Press, New Brunswick.
56. MANN (T.). — The biochemistry of Semen and the male reproductive tract. 1964, Methuen and Co., edit., London.

57. MELROSE (D.R.). — Artificial Insemination in Cattle, in *Semen of Animals and Artificial Insemination*, edit. by J.P. Maule, 1962, Commonwealth Agricultural Bureaux, London.
58. MERCIER-PAROT (L.), TUCHMAN-DUPLESSIS (H.). — Influence de la réserpine sur le cycle œstral de la rate. *C. R. Acad. Sci.*, 1955, (240), 1935.
59. MOORE (C.R.), GALLAGHER (T.F.). — On the prevention of castration effects in mammals by testis extracts injection. *Amer. J. Physiol.*, 1929, (80), 388.
60. MOORE (C.R.), GALLAGHER (T.F.). — Seminal vesicle and prostate fonction as a testis hormone indicator ; the electric ejaculation test. *Amer. J. Physiol.*, 1930, (55), 36.
61. NALBANOV (A.V.). — Mechanisms controlling Ovulation of Avian and Mammalian Follicles. In *Control of Ovulation*, 1961, Pergamon Press, New York.
62. NICANDER (L.). — On the regional histology and cytochemistry of the ductus epididymis in rabbits. *Acta. Morph. Neerl. Scand.*, 1957, (1), 99.
63. NICANDER (L.). — Studies on the regional histology and cytochemistry of the ductus epididymis in stallions rams and bulls. *Acta. Morph. Neerl. Scand.*, 1958, (1), 337.
64. NOYES (R.W.), WALTON (A.), ADAMS (C.E.). — Capacitation of Rabbit spermatozoa. *J. Endocrin.*, 1958, (16), 374.
65. NOYES (R.W.), ADAMS (C.E.), WALTON (A.). — The passage of spermatozoa through the genital tract of female rabbit after ovariectomy and oestrogen treatment. *J. Endocrin.*, 1959, (17), 98.
66. OGAWA (S.), SUZUKI (Y.). — Studies of artificial insemination in the rat. *Jap. J. Animal. Reprod.*, 1955, (1), 67.
67. ORBACH (J.). — Spontaneous ejaculation in rat. *Science*, 1961, (134), 1072.
68. RANTHER (M.). — Ueber den Genitalapparat einiger Nager und Insectivoren, insbesondere die akzessorischen Genital-drüsen derselben. *Jenaische Zischer. f. Naturwissenschaft*, 1903, (31-38), 377.
69. REID (B.L.), CLELAND (K.W.). — The structure and function of the epididymis. I : The histology of the rat epididymis, *Australian J. Zool.*, 1957, (5), 233.
70. REID (B.L.). — Some cytological features of epididymal cells in the rat. *Quart. J. Min. Sci.*, 1958, (99), 295.

71. RÉMY (C.). — Note sur les effets de la résection des nerfs éjaculateurs. *C. R. Soc. Biol.*, 1885, (37), 659.
72. RÉMY (C.). — Nerfs éjaculateurs. *J. de l'Anat. et de la Physiol.*, 1886, (22), 205.
73. RISLEY (P.L.). — The contractile behaviour in vivo of the ductus epididymis and vasa efferentia of the rat. *Anat. Rec.*, 1958, (130), 471.
74. RISLEY (P.L.), VAN DE VELDE (M.). — Contractility of the ductus epididymis of smooth muscle of the Wolffian duct. *Anat. Rec.*, 1959, (134), 629.
75. RISLEY (P.L.). — Physiology of the male accessory organs. In *Mechanisms concerned with conception*. 1963, Pergamon Press, New York.
76. ROCKHOLD (W.T.), HIESTAND (W.A.). — *Anat. Rec.*, 1956 (125), 642, in *J. of Small An. Practice*, 1962, (3), 77.
77. ROGER, BINET (L.). — *Traité de Physiologie* (12 volumes), 1940, Masson et Cie Edit, Paris.
78. ROSEN-RUDGE (E.C.). — The rete testis in the albinos rat : its structure, development and morphological significance. *Acta. Anat.*, 1959, (45), 1.
79. ROWLANDS (I.W.). — Insemination of the guinea-pig by intraperitoneal injection. *J. Endocrin.*, 1957, (16), 98.
80. ROWSON (L.E.). — Techniques of Collection, Dilution and storage of Semen, in *Reproduction in Domestic animals*, edit. by H.H. Cole and P.T. Cupps, 1959, Academic Press, London.
81. RUGH (R.). — Relation of the intact pituitary gland to artificial induced Ovulation. *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, 1939, (40), 132.
82. SCOTT (J.R.), DZIUK (P.L.). — Evaluation of the electro-ejaculation technique and the spermatozoa thus obtained from rats, mice and guinea-pigs. *Anat. Rec.*, 1959, (133), 655.
83. SNELL (G.D.), HUMMEL (K.P.), ABELMAN (W.A.). — A technique for the artificial insemination of mice. *Anat. Rec.*, 1944, (90), 243.
84. SPINA (A.). — Experimentelle Beiträge zu der Lehre von der Erection und Ejaculation. *Wien, Med., Blätter*, 1897, (10), 13.
85. SUZUKI (Y.). — New ejaculatory response in the rat and their applications at the indicators of sexual activities. *III^e Congres de Physiol. et Path. Reprod. An. et d'Insémination artificielle*, Copenhague.

86. THUILLIER (O.). — Technique de l'électro-éjaculation. Son application chez le cobaye. *Thèse Doct. Vét., Alfort*, 1939.
87. TINET (E.). — Electro-éjaculation et insémination artificielle chez les volailles, la souris et le chien. *Thèse Doct. Vét. Alfort*, 1939.
88. TOULOUSE (E.), SIMONET (H.), EHRENRECHT (T.). — Influence des barbituriques sur les modalités de l'éjaculation provoquée chez le cobaye. *C. R. Soc. Biol.*, 1936, (121), 728.
89. TUCHMANN (M.), DUPLESSIS (H.). — Influence de la réserpine sur les glandes endocrines. *Presse Méd.*, 1956, (64), 2189.
90. WRIGHT (P.A.). — Factors affecting in vitro ovulation in the frog. *J. Exptl. Zool.*, 1945, (100), 565.
91. ZUCKERMAN (S.). — The number of oocytes in the nature oudry : Recent progress. *Hormone Research*, 1961, (6), 63.

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION	9
PREMIÈRE PARTIE. — <i>Rappels d'Anatomie et de Physiologie génitale chez les rongeurs.</i>	
CHAPITRE I. — Appareil génital mâle	11
CHAPITRE II. — Appareil génital femelle	17
DEUXIÈME PARTIE. — <i>L'insémination artificielle des Rongeurs de Laboratoire.</i>	
CHAPITRE I. — L'éjaculation artificielle	23
Méthodes dérivées de l'accouplement naturel	23
Massages	23
Vagins artificiels	24
Méthodes pharmaco-dynamiques	28
Injection d'électrolytes	28
Injection d'alcaloïdes et d'alcool	28
Injection d'hormones	28
Méthodes agissant sur les centres nerveux supérieurs	29
Moyens physiques et mécaniques	29
Moyens chimiques	29
Réflexes	29
Méthodes agissant sur les centres nerveux spinaux :	
L'électro-éjaculation	29
Historique	30
Essais personnels	32
Conclusion	36

CHAPITRE II. — Le sperme des Rongeurs de Laboratoire ..	37
Aspect du sperme	37
Examen du sperme	38
Dilution et conservation du sperme	39
CHAPITRE III. — L'insémination artificielle des femelles ..	43
Insémination artificielle de la lapine :	
Par voie vaginale	43
Matériel	43
Technique	45
Après laparotomie	45
Insémination artificielle des autres espèces.	
La femelle du Cobaye	45
La Ratte	46
La Souris	46
Conclusion	46
FIGURES	25 et 44
CONCLUSION GÉNÉRALE	47
BIBLIOGRAPHIE	49

IMPRIMERIE P. ROUDIL

63, Quai Clemenceau

CALUIRE (Rhône)

